

UNIVERSITE PARIS - SUD
FACULTE DE MEDECINE KREMLIN-BICETRE

55

THESE
pour le
DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

Claudine TREBUCHET , née VERMEIL

Née le 21 JANVIER 1946 à PARIS

PRESENTEE et SOUTENUE PUBLIQUEMENT

SUR LA MISE EN EVIDENCE DE CELLULES
FOETALES DANS LE SANG DES FEMMES ENCEINTES

Président : M. ROYER, Professeur

PARIS 1971

UNIVERSITE PARIS-SUD

FACULTE DE MEDECINE KREMLIN-BICETRE

T H E S E

pour le

D O C T O R A T E N M E D E C I N E

(Diplôme d'Etat)

par

Claudine TREBUCHET , née VERMEIL

Née le 21 JANVIER 1946 à PARIS

PRESENTEE et SOUTENUE PUBLIQUEMENT

SUR LA MISE EN EVIDENCE DE CELLULES
FOETALES DANS LE SANG DES FEMMES ENCEINTES

Président : M. ROYER, Professeur

PARIS 1971

UNIVERSITY OF LEIDEN

RECHTSGESCHIEDENISCH

1817

1817

PROFESSOR IN RECHTSGESCHIEDENISCH

(1817-1818)

1817

PROFESSOR IN RECHTSGESCHIEDENISCH

1817-1818

PROFESSOR IN RECHTSGESCHIEDENISCH

PROFESSOR IN RECHTSGESCHIEDENISCH



PROFESSOR IN RECHTSGESCHIEDENISCH

1817-1818

Le Président du
Jury de Thèse

Le Doyen de la
Faculté de Médecine
KREMLIN - BICETRE

Le Recteur de
l'Académie.

A

Monsieur Le Professeur Pierre ROYER

Professeur de Clinique de Génétique Infantile
Médecin des Hôpitaux

En remerciement du grand honneur
qu' il m'a fait en acceptant
la présidence de cette thèse.

A

Monsieur Le Docteur Jean de GROUCHY

Directeur de Recherches au C N R S

qui m'a inspiré le sujet de ce travail
et m'a guidé tout au long de
sa réalisation.

En témoignage de ma reconnaissance
pour l'accueil qu'il m'a réservé
dans son laboratoire.

AU

Docteur Catherine TURLEAU

qui m'a aidé à réaliser ce travail.

En témoignage de mon amitié.

A

Mademoiselle Michèle ROUBIN
Madame Marie - Odile CABANIS
Monsieur Jan BERGHEGE

dont la compétence technique et la
gentillesse m'ont été d'un précieux concours

Depuis toujours, l'incertitude du sexe de l'enfant à naître a angoissé les parents. 2.000 ans avant J.C., les Egyptiens s'étaient intéressés à la question et avaient même proposé un moyen pour la résoudre : " Tu dois mettre dans un sachet d'étoffe des grains de froment et d'orge . La femme doit uriner journellement dessus . Si le blé germe , elle mettra au monde un garçon . Si l'orge germe , elle donnera le jour à une fille . Si ni l'un ni l'autre ne germe , elle n'enfantera pas ... " (PAPYRUS KAHUN).

Il n'est pas surprenant que les charlatans aient tenté de faire leur profit de cette angoisse . Les procédés les plus variés et surtout les plus extravagants ont été proposés pour tenter de connaître, avant l'échéance normale, quel avait été le choix du destin garçon ou fille. On se doute bien que tous ces procédés étaient voués à l'échec ... mais l'art et la mauvaise foi du charlatan pouvaient parfois pallier leur incohérence scientifique.

Il est néanmoins certain que la connaissance du sexe de l'embryon n'est pas sans intérêt. Cela va de soi dans l'espèce humaine, en particulier dans le cas des maladies liées au sexe n'atteignant que les garçons (EMERY, 1970).

Pour d'autres espèces , cette connaissance aurait un grand intérêt économique . Il est certain, par exemple, que les éleveurs de bovins feraient leur profit s'ils pouvaient prévoir leur marché en sachant à l'avance si leurs vaches leur donneront des veaux ou des génisses.

La première méthode sérieuse proposée pour déterminer le sexe du fœtus dans l'espèce humaine a été l'étude des cellules foetales desquamées dans le liquide amniotique , afin de rechercher l'existence, dans les noyaux de ces cellules, de masses chromatiniennes ou corps de BARR (MAKOWSKI et coll. 1956 ; SERE et MARGOLIS 1964,

AMAROSE et coll. 1966). Ces masses accolées à la membrane nucléaire pendant l'interphase représentent en effet, le chromosome X inactivé, et ne sont retrouvées que chez les femmes 46, XX et les individus qui ont plus d'un chromosome X . On peut donc ainsi déterminer facilement si le fœtus porte un X ou deux, et en conséquence savoir si il est garçon ou fille.

Mais si le simple examen des cellules amniotiques fournit déjà quelques renseignements, la culture de ces cellules est beaucoup plus intéressante : l'établissement de la formule chromosomique du fœtus devient en effet possible (STEELE et BREG 1966).

Mais cette méthode , qui commence à être largement utilisée aux U. S. A., présente plusieurs inconvénients : les difficultés rencontrées lors de la culture des cellules amniotiques et donc a priori peu viables ; les risques, mêmes minimes, que la ponction amniotique fait courir à la mère et à l'enfant et la date relativement tardive à laquelle on peut faire la ponction.

X
X X

WALKNOWSKA , CONTE et GRUMBACH (1969), en étudiant les préparations obtenues à partir du sang veineux de femmes enceintes, ont montré l'existence, chez certaines, de cellules dont le caryotype est de type masculin 46, XY. Ces auteurs ont conclu à la possibilité d'un passage transplacentaire de cellules fœtales vers la circulation maternelle.

Leur étude a porté sur trente femmes enceintes , dont onze multipares . Les résultats sont résumés dans le tableau 1 . On peut distinguer quatre groupes de femmes :

- Pour un premier groupe de 19 femmes, une à trois cellules 46, XY ont été détectées ; chacune de ces femmes a donné naissance à un garçon . Parmi elles , 7 sont multipares et on ne connaît pas le sexe des premiers nés.

- Pour un second groupe de 6 femmes , aucune cellule 46,XY n'a été trouvée. Chacune a accouché d'une fille.

- Le troisième groupe comprend trois femmes , qui ont donné naissance à des garçons ; aucune cellule 46, XY n'avait été détectée chez elles.

- Pour le dernier groupe de deux femmes , qui ont accouché chacune d'une fille , une cellule 46, XY avait été observée. La première avait déjà eu un garçon. La seconde était primipare.

Dans aucun des trente cas examinés, les auteurs ne signalent avoir trouvé de cellules dont le caryotype soit anormal par ailleurs.

Ils concluent à l'existence d'un passage transplacentaire de cellules foetales , probablement lymphocytaires ; ce passage se ferait précocément, au cours du premier trimestre de la grossesse. Cette estimation repose sur l'étude d'une femme, dont l'examen, fait à 14 semaines de gestation , a révélé l'existence de trois cellules 46, XY. Cette femme a accouché d'un garçon. Malheureusement , il s'agissait de sa troisième grossesse et le sexe des premiers nés n'est pas précisé.

WALKNOWSKA et coll. (1969) avancent en effet l'hypothèse que des cellules provenant de l'embryon peuvent survivre très longtemps chez la mère et expliquent ainsi la découverte de cellules 46, XY chez des femmes qui donnent naissance à une fille , mais qui ont eu un ou plusieurs garçons lors de précédentes grossesses.

+
+ +

Nous avons entrepris une étude semblable et examiné 21 femmes enceintes , comprenant 8 primipares , 10 femmes ayant déjà eu une fille - parmi elles, deux avaient également fait un ou plusieurs avortements - et trois femmes déjà mères d'un garçon.

OBSERVATIONSObservation 1,

3 ème grossesse. A eu précédemment 2 filles.

Pas de fausse couche.

Dernières règles le 15 mai 1969

Examen fait le 15 septembre 1969.

Age de la grossesse à cette date : 15 semaines.

Accouchement le 22 février 1970 d'un garçon bien portant.

Observation 2

1 ère grossesse. Pas de fausse couche.

Dernières règles le 15 Avril 1969

Examen fait le 13 octobre 1969

Age de la grossesse à cette date : 24 semaines.

Accouchement en janvier 1970 d'un garçon.

Observation 3

3 ème grossesse. Naissance d'une fille en 1968.

A fait une fausse couche.

Dernières règles le 28 décembre 1968

Examen fait le 23 juin 1969

Age de la grossesse à cette date : 23 semaines.

Accouchement le 7 octobre 1969 d'un garçon.

Observation 4

31 ans.

3 ème grossesse. A eu 2 filles. Pas de fausse couche.

Dernières règles le 14 mars 1969

Examen fait le 22 décembre 1969.

Age de la grossesse à cette date : 39 semaines.

Accouchement le 27 décembre 1969 d'un garçon.

Observation 5

1 ère grossesse . Pas de fausse couche.
Dernières règles en février 1969.
Examen fait le 16 juin 1969.
Age de la grossesse à cette date : 16 semaines.
Accouchement le 11 novembre 1969 d'un garçon.

Observation 6

26 ans
1 ère grossesse. Pas de fausse couche
Dernières règles en mai 1969
Examen fait le 15 novembre 1969.
Age de la grossesse à cette date : 26 semaines.
Accouchement le 17 février 1970 d'un garçon.

Observation 7

2 ème grossesse . A eu 1 fille.
Dernières règles en mars 1969.
Examen fait le 27 juin 1969
Age de la grossesse à cette date : 13 semaines.
Accouchement le 13 janvier 1970 d'un garçon.

Observation 8

2 ème grossesse. A eu 1 fille en 1969 (Observation 12).
Pas de fausse couche.
Dernières règles en septembre 1969
Examen fait le 9 mars 1970
Age de la grossesse à cette date : 21 semaines.
Accouchement le 6 juillet 1970 d'un garçon.

Observation 9

2 ème grossesse. A eu 1 fille. Pas de fausse couche.
Dernières règles en mai 1969.

Examen fait le 20 janvier 1970.

Age de la grossesse à cette date : 32 semaines environ.

Accouchement en février 1970 d'une fille.

Observation 10

6 ème grossesse. 1 ère fausse couche spontanée à 3 mois 1/2 en 1966.

2 ème fausse couche spontanée à 6 semaines
Accouchement en mai 1968 de jumelles.

3 ème fausse couche spontanée à 6 semaines

4 ème fausse couche spontanée à 6 semaines

Dernières règles le 5 Février 1969.

Examen fait le 6 Octobre 1969.

Age de la grossesse à cette date : 33 semaines.

Accouchement en novembre 1969 d'une fille.

Observation 11

2 ème grossesse. A eu une fille en 1967. Pas de fausse couche.

Dernières règles le 3 janvier 1969.

Examen fait le 16 septembre 1969.

Age de la grossesse à cette date : 34 semaines.

Accouchement en octobre 1969 d'une fille.

Observation 12

1 ère grossesse. Pas de fausse couche.

Dernières règles en septembre 1968.

Examen fait le 13 juin 1969.

Age de la grossesse à cette date : 32 semaines.

Accouchement le 5 juillet 1969 d'une fille.

Observation 13

1 ère grossesse. Pas de fausse couche.

Dernières règles en juillet 1969.

Examen fait le 2 janvier 1970.

Age de la grossesse à cette date : 25 semaines

Accouchement le 9 avril 1970 d'une fille.

Observation 14

34 ans

2 ème grossesse. A eu une fille en 1965

Pas de fausse couche

Dernières règles le 17 mars 1969.

Examen fait le 27 octobre 1969.

Age de la grossesse à cette date : 30 semaines

Accouchement le 12 décembre 1969 d'une fille.

Observation 15

2 ème grossesse. A eu une fille. Pas de fausse couche

Dernières règles le 26 août 1969.

Examen fait le 9 janvier 1970.

Age de la grossesse à cette date : 22 semaines

Accouchement en juin 1970 d'un garçon.

Observation 16

1 ère grossesse. Pas de fausse couche.

Dernières règles le 9 juin 1969.

Examen fait le 14 janvier 1970.

Age de la grossesse à cette date : 29 semaines

Accouchement en mars 1970 d'un garçon.

Observation 17

28 ans

1 ère grossesse. Pas de fausse couche.

Dernières règles le 17 juillet 1969.

Examen fait le 17 novembre 1969.

Age de la grossesse à cette date : 16 semaines.

Accouchement en avril 1970 d'une fille.

Observation 18

2 ème grossesse. A eu un garçon.

Dernières règles en février 1969.

Examen fait le 16 Juin 1969.

Age de la grossesse à cette date : 16 semaines

Accouchement le 11 novembre 1969 d'une fille.

Observation 19

2 ème grossesse. A eu un garçon.

Dernières règles en décembre 1968.

Examen fait le 1^{er} Septembre 1969.

Age de la grossesse à cette date : 34 semaines

Accouchement en octobre 1969 d'une fille.

Observation 20

2 ème grossesse. A eu un garçon le 2 octobre 1968 qui aurait été trisomique 21 ; il est décédé à 10 jours.

Dernières règles le 25 juillet 1969.

Examen fait le 17 novembre 1969.

Age de la grossesse à cette date : 14 semaines.

Accouchement en mai 1970 d'une fille.

Observation 21

2 ème grossesse. A fait une fausse couche en 1967.

Dernières règles le 28 septembre 1969.

Examen fait le 9 mars 1970.

Age de la grossesse à cette date : 21 semaines.

Accouchement en juillet 1970 d'une fille.

METHODES

On a cherché à mettre en évidence, dans le sangpériphérique des femmes enceintes, l'existence de cellules de type masculin, c'est-à-dire de cellules caractérisées par la présence de 5 petits chromosomes acrocentriques. En effet, le chromosome Y est peu différent des chromosomes du groupe C et on peut, en comptant uniquement les petits chromosomes acrocentriques, distinguer les cellules de type masculin de celles de type féminin, en fonction de l'existence de 4 ou 5 petits chromosomes acrocentriques.

Les préparations caryotypiques ont été obtenues selon la technique décrite par GROUCHY et coll. (1964) .

Vingt gouttes de sang veineux prélevé sur héparine sont mises en culture pendant 72 heures dans deux tubes contenant chacun :

- 15 ml de milieu 199 + antibiotiques,
- 4 ml de sérum AB humain, prélevé chez une femme de préférence,
- 1 goutte de phytohémagglutinine M et une goutte de phytohémagglutinine P.

Après 72 heures environ à 37° C, 2 ml de colchicine à 0,4 % sont ajoutés dans chaque tube. Les tubes sont maintenus à l'étuve pendant 2 heures.

Les cellules sont ensuite centrifugées pendant 10 minutes à 800 tours/minute, puis choquées pendant 7' à 37° C par 5 ml de citrate de sodium à 0,95 % additionnés de 5 gouttes de hyaluronidase.

La suspension est alors à nouveau centrifugée pendant 10' à 800 tours/minute, puis fixée par 5 ml environ d'une solution aux 3/4 d'alcool éthylique absolu et au 1/4 d'acide acétique glacial. La suspension est laissée à 0° C pendant 20 minutes.

Après centrifugation pendant 10' à 800 tours/minute, le culot cellulaire est resuspendu dans 2 ml environ d'une solution à 45 % d'acide acétique glacial.

Après une dernière centrifugation, le culot est repris dans une goutte ou 2 du dernier fixateur, étalé sur lame, fixé à la flamme et coloré au colorant de Giemsa.

Les métaphases obtenues sont alors examinées au microscope, en premier lieu au faible grossissement (X 10) qui permet de sélectionner les mitoses apparemment complètes et surtout bien étalées. Celles-ci sont alors analysées à l'immersion au fort grossissement (X 100), et comptées : les cellules comportant 5 petits chromosomes acrocentriques ont été photographiées et caryotypées, ainsi que toute cellule présentant une anomalie évidente (translocation, endoré, duplication).

Selon les cas, la recherche de cellule comportant 5 petits chromosomes acrocentriques nécessitait l'examen d'un nombre plus ou moins grand de métaphases. Elle était poursuivies, soit jusqu'à la découverte, chez une même femme, de deux cellules de type masculin, soit, quand aucune de ces cellules n'était mise en évidence, jusqu'à la limite arbitraire de 800 cellules examinées.

Il est probable, comme nous le verrons plus loin, que cette limite soit trop basse.

RESULTATS

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau II.

Cas 1 à 8 : des cellules 46, XY ont été trouvées avec une fréquence variable dans le sang maternel. Dans tous les cas, la grossesse s'est terminée par la naissance d'un garçon. Chez trois femmes, des marqueurs chromosomiques et d'autres réarrangements ont été observés.

Cas 9 à 14 : aucune cellule 46, XY n'a été détectée ; chacune de ces six femmes a donné naissance à une fille. Des cellules remaniées ont été à nouveau observées.

Cas 15 à 17 : aucune cellule 46,XY n'a été observée. Ces trois femmes ont donné le jour à des garçons.

Cas 18 à 20 : Ces femmes avaient eu un garçon lors d'une grossesse précédente . Une cellule 46, XY a été trouvée , et chacune de ces grossesses s'est terminée par la naissance d'une fille.

Cas 21 : Deux métaphases 46, XY ont été trouvées et cette femme a donné le jour à une fille . Un interrogatoire plus poussé a permis d'apprendre l'existence , trois ans auparavant , d'un avortement provoqué à 2 mois 1/2 de grossesse.

Les études 8 et 12 concernent deux grossesses successives chez la même mère.

Les réarrangements chromosomiques et les cellules anormales observées sont de plusieurs types.

1. ANOMALIES DE NOMBRES

Chez trois femmes (observations 6, 7 et 17) a été mise en évidence une cellule présentant 47 chromosomes dont 2 X . Dans les trois cas , le chromosome surnuméraire était un petit chromosome acrocentrique de la taille d'un G ou d'un Y.

Deux autres cellules aneuploïdes ont été trouvées lors de l'étude du cas 7 : une cellule présente également 47 chromosomes dont 2 X, le chromosome surnuméraire étant un chromosome du groupe E (paire 17 ou 18). L'autre cellule présente 46 chromosomes, dont 2 X. Il manque un chromosome du groupe G et on note l'existence d'un petit chromosome médiocentrique surnuméraire plus petit qu'un F.

Une cellule hyperdiploïde à 51 chromosomes a été observée dans le cas 13, avec endoréduplication d'un chromosome du groupe C et d'un chromosome du groupe E.

2. ANOMALIES DE STRUCTURE

Lors de l'étude du cas 7 , outre les quatre cellules présentant des anomalies de nombre, une cellule porteuse d'une translocation entre deux chromosomes du groupe D a été caryotypée.

Une cellule porteuse d'une translocation a également été observée dans le cas 13 : il s'agit d'une translocation entre les bras longs d'un chromosome du groupe C et les bras longs d'un chromosome D.

Dans le cas 11, l'existence d'une lacune au niveau des bras longs d'un des chromosomes de la deuxième paire (2 qh) a été mise en évidence dans plusieurs cellules. Dans certaines cellules, le chromosome présentait une cassure à ce niveau ; dans d'autres, la lacune s'accompagnait d'une endoreduplication sélective des bras longs du chromosome 2 au delà de la lacune.

DISCUSSION

Les résultats rapportés ici confirment dans l'ensemble les observations faites par WALKNOWSKA et coll. L'examen de ces résultats conduit à poser plusieurs questions :

- les cellules observées dans le sang maternel sont-elles d'origine foetale ?

- la méthode employée est-elle applicable, dans la pratique courante, à la détermination du sexe et à l'établissement du caryotype du fœtus avant la naissance ?

- que représente, du point de vue physiologique, le passage de cellules foetales chez la mère ?

1. ORIGINE FOETALE DES CELLULES.

L'existence de cellules 46,XY présentes en faible pourcentage chez une femme normale est probablement à exclure. Plusieurs cas de mosaïques 46, XX/ 46, XY ont été décrits, mais les individus porteurs de ces mosaïques sont des intersexués, le plus souvent des hermaphrodites vrais, et donc stériles. Le mécanisme invoqué pour expliquer ces anomalies est une double fécondation d'un ovule par deux spermatozoïdes, l'un portant le chromosome X, l'autre le chromosome Y (GROUCHY et coll. 1964). Dans ces cas, les proportions respectives des deux populations cellulaires sont sensiblement égales. On pourrait sans doute imaginer une mosaïque où la population 46, XX serait largement majoritaire et la population 46,XY présente à

un pourcentage très faible. Cette hypothèse, quoique non impossible, peut , semble -t-il , être raisonnablement écartée , d'autant qu'il serait inconcevable que 12 femmes , sur les 21 étudiées , soient mosaïques.

En outre , WALKNOWSKA et coll. ont étudié cinq femmes non enceintes et examiné pour chacune 2000 métaphases , sans trouver aucune cellule 46, XY.

Ces cellules pourraient éventuellement provenir d'une transfusion antérieure de sang d'un donneur masculin , mais ce n'est le cas d'aucune des femmes étudiées.

Il faut encore éliminer une contamination par le sérum humain employé lors des cultures ; une centrifugation mal faite pourrait laisser échapper quelques lymphocytes . Mais cette cause d'erreur est à écarter également, car des sérums provenant de femmes ont été employés préférentiellement.

L'ensemble de ces considérations permet de conclure à l'origine foetale de ces cellules. La barrière placentaire laisserait par conséquent passer dans le sang maternel des éléments figurés foetaux. Ce phénomène a déjà été décrit pour les érythrocytes foetaux (PEARSON et DIAMOND, 1959 ; REILLY , 1960 ; LEE et VASQUEZ , 1962 ; ZIPURSKY et coll. 1963 ; COHEN et coll. 1964 ; McLAREY et FISH, 1966) et pour les cellules trophoblastiques (DOUGLAS et coll. 1959).

La nature des cellules foetales mises en évidence par culture du sang maternel reste à préciser : ce point sera discuté plus loin.

II. VALEUR DE LA METHODE

Dans 14 cas , le sexe de l'enfant à la naissance était conforme aux prévisions . Dans 8 cas , la présence de cellules de formule 46, XY avait fait prévoir une naissance masculine et dans 6

cas l'absence de cellules 46,XY pouvait faire envisager une naissance féminine.

Les sept cas restants comprennent :

- un premier groupe de trois femmes (cas 15 à 17) dont l'étude n'avait pas mis en évidence de cellules 46, XY . Toutes les trois ont donné naissance à un garçon . Pour chacune d'elles , 800 métaphases environ avaient été examinées.

- un deuxième groupe de trois femmes , chacune déjà mère d'un garçon (Cas 18 à 20) , leur première grossesse avait eu lieu pour chacune environ 3 ans auparavant. Chez elles, une seule cellule 46, XY, a été détectée . Ces trois femmes ont donné naissance à des filles.

- le troisième groupe ne comprend qu'une femme (cas 21) primipare ; les préparations chromosomiques nous ont permis de faire le caryotype de deux cellules 46, XY. Cette femme a donné naissance , quelques mois plus tard, à une fille. Nous avons alors appris qu'une première grossesse, 3 ans auparavant, avait été interrompue à 2 mois 1/2 environ.

Ces apparentes exceptions peuvent cependant s'expliquer Dans le cas de femmes chez lesquelles on n'observe pas de cellules 46, XY et qui pourtant donnent naissance à des garçons , on peut penser que la limite de 800 cellules , le plus souvent valable , est dans certains cas insuffisante , du fait sans doute de variations du pourcentage de cellules foetales dans le sang maternel , variations selon les femmes , peut-être soumises à un contrôle génétique , variations selon l'âge de la grossesse et peut-être même d'une grossesse à l'autre chez la même femme.

Pour les femmes , ayant déjà eu un garçon , chez lesquelles on trouve des cellules 46 ,XY et qui donnent le jour à une fille, on peut penser avec WALKNOWSKA et coll. que des cellules d'origine foetale persistent longtemps chez la mère. Cette hypothèse n'est pas invraisemblable, étant donné que l'on sait que les lymphocytes vivent sans doute très longtemps dans le sang . On peut en donner pour preuves les observations faites chez les individus irradiés au Japon.

On a trouvé chez eux des remaniements chromosomiques plus de vingt ans après le bombardement atomique (UNITED NATIONS 1969). Cette observation permet de penser que les lymphocytes sanguins ont une durée de vie très prolongée par rapport à d'autres cellules sanguines.

Le dernier cas n'est en fait qu'une variante du précédent : on peut raisonnablement supposer en effet que la première grossesse masculine a été suffisamment prolongée pour permettre à des cellules foetales de passer dans le sang maternel et d'y survivre, comme au cours d'une grossesse menée à terme . L'examen pratiqué lors d'une deuxième grossesse , féminine celle-là , a mis ces cellules en évidence.

La méthode décrite par WALKNOWSKA et coll. parait donc dans l'ensemble bonne. Elle permettrait de prévoir une grossesse masculine mais uniquement chez les primipares et chez les femmes n'ayant pas encore eu de garçon . Par ailleurs, si elle ne permet pas d'affirmer l'existence d'une grossesse féminine , elle peut malgré tout donner une forte probabilité en sa faveur.

Dans l'analyse des résultats, un chapitre important concerne l'existence de cellules anormales chez 6 de ces femmes par ailleurs normales, qu'il y ait ou non chez elles présence de cellule 46, XY (cas 5, 6, 7, 11, 13, 17).

Le cas 11 est à considérer à part . Il s'agit en effet chez cette femme d'une anomalie chromosomique constitutionnelle découverte fortuitement. Dans plusieurs métaphases examinées, un des chromosomes de la deuxième paire était porteur d'une constriction anormale (2qh) avec cassures et endoréductions sélectives à ce niveau.

Cette anomalie chromosomique semble fréquemment intéresser le chromosome 2 , mais elle a également été décrite pour des chromosomes du groupe C . Elle se transmet génétiquement et a pu être suivie , dans plusieurs familles, d'une génération à l'autre. Son mécanisme n'est pas connu ; il pourrait s'agir d'une anomalie de

régulation de la réplication chromosomique (LEJEUNE et coll. 1966). Il n'a pas été mis en évidence de relation entre l'existence d'une lacune sur un chromosome donné et les anomalies phénotypiques qui ont pu être constatées. En effet, la majorité des observations ont été faites chez des sujets présentant des anomalies phénotypiques mais certains parents ou apparentés de ces malades ont été trouvés porteurs de la même lacune, bien que leur phénotype paraisse tout à fait normal. Dans le cas étudié ici, il s'agissait d'une femme parfaitement normale. Aucun des membres de la famille n'a été trouvé porteur de la même anomalie.

Dans les autres cas, on n'a jamais trouvé, chez une même femme, deux cellules présentant la même anomalie. Dans le cas 13, par exemple, nous avons trouvé deux cellules anormales : l'une présentait une translocation $t(Cq+-Dq-)$, l'autre était une cellule hyperdiploïde avec endoréduplication partielle.

Ces réarrangements sont donc à verser au compte du "fonds permanent" d'anomalies chromosomiques (GROUCHY, 1967). Il semble en effet démontré qu'il existe, chez les individus normaux, un faible pourcentage de cellules anormales qui présentent des réarrangements chromosomiques variables d'une cellule à l'autre. Des remaniements simples tels que des cassures chromatidiennes sont observés couramment dans les préparations cytogénétiques.

Elles sont probablement dues à des artefacts techniques.

En revanche, les remaniements complexes tels que les translocations impliquent la cassure de 2 chromosomes ; cette cassure doit intéresser, non un chromatide, mais les deux au même niveau ou bien doit se produire avant la duplication chromosomique.

Cette considération, jointe au fait qu'il faut envisager, après les cassures, une réparation chromosomique, permet de penser que ces remaniements ont lieu dans la cellule vivante et ne résultent pas d'artefacts techniques (GROUCHY 1967).

Quant aux anomalies de nombre, il est plus difficile d'écarter formellement tout artefact technique, mais l'impossibilité, parmi les chromosomes des cellules aneuploïdes observées, d'en distinguer un qui soit légèrement différent des autres - ce qui est

le cas quand un chromosome d'une autre cellule est venu se mêler à ceux de la métaphase observée , - laisse penser qu'il s'agit d'une anomalie véritable . Elle peut d'ailleurs s'expliquer par un phénomène d'endoduplication sélective.

Chez trois femmes différentes (cas 6, 7, 17), nous avons trouvé une cellule à 47 chromosomes, compatible soit avec la formule 47, XX,G + , qui est celle d'une fille trisomique 21 , soit avec la formule 47, XXY qui est celle d'un garçon atteint du syndrome de KLINEFELTER. Ces trois femmes ont accouché d'enfants normaux.

Ces trois observations posent le problème de l'utilisation de cette méthode simple à la détection d'anomalies chromosomiques du fœtus pendant la vie intra-utérine . Nous avons déjà vu les inconvénients que présente le prélèvement de cellules fœtales par ponction amniotique : culture difficile , risques courus par la mère et l'enfant, date tardive à laquelle la ponction est praticable.

Ajoutons que l'on connaît au moins une observation (SPERLING et SALING 1971) dans laquelle la culture de cellules amniotiques a révélé l'existence exclusive de cellules hautement anormales ; il s'agissait en l'occurrence de cellules triploïdes. Cette constatation n'a pas conduit à l'interruption de la grossesse et celle-ci s'est terminée par la naissance d'un enfant normal.

L'ensemble de ces considérations conduit dès lors à limiter l'application de cette méthode et à interpréter très prudemment les résultats qu'elle permet d'obtenir.

La méthode que nous avons employée ne peut pas non plus être appliquée largement , bien qu'elle soit d'une innocuité absolue et qu'elle puisse être utilisée à une date précoce. Elle est longue , coûteuse , et ne permet pas de recueillir une information suffisante sur l'identité chromosomique du fœtus : en effet , elle cherche à mettre en évidence dans le sang maternel la présence de rares cellules dont le caryotype ne soit pas 46,XX. Or nous venons de voir qu'il existe , chez les individus normaux , plusieurs causes à

l'existence de cellules anormales : le " fonds permanent " de remaniements chromosomiques , l'endoréduplication sélective , et certaines anomalies constitutionnelles telles que le 2 qh , qui précisément produisent de rares cellules anormales . Il faut donc être extrêmement prudent et rester conscient des limites dans lesquelles on doit se placer pour interpréter les résultats.

Mais le développement de nouvelles techniques permettra peut-être d'appliquer plus largement et plus sûrement cette méthode. Deux nouveaux procédés sont à ce titre intéressants . L'un est l'analyse caryotypique par ordinateurs, qui permet d'étudier un grand nombre de cellules et de ne soumettre à l'analyse que les cellules anormales ; l'autre est l'examen en lumière ultra-violette après marquage électif des chromosomes par des corps fluorescents, comme la quinacrine ou la mépacrine . La fixation se fait avec une intensité variable sur la longueur du chromosome : la succession de zones plus ou moins fluorescentes est caractéristique d'une paire chromosomique donnée et permet de la caractériser. En particulier, le chromosome Y est ainsi facilement repéré grâce au marquage intense de ses bras longs.

Ces deux techniques d'analyse caryotypique permettront sans doute d'examiner un nombre suffisamment grand de cellules chez la mère pour distinguer entre le fonds permanent de remaniements chromosomiques et les cellules qui sont un reflet fidèle de la constitution chromosomique du fœtus.

III. ASPECT PHYSIOLOGIQUE

Ces méthodes, et sans doute d'autres, permettront également de se faire une idée plus précise des modalités du passage transplacentaire des cellules fœtales.

Ce passage pose en effet plusieurs questions :

- celle de la nature des cellules qui franchissent la barrière placentaire,

- celle de la date du passage
- celle de ses modalités.

1. De quelles cellules s'agit-il ?

DOUGLAS et coll. (1959) ont montré l'existence, dans le sang de femmes enceintes, de trophoblastes foetaux. Mais ceux-ci n'ont été retrouvés que dans les veines utérines et non dans les veines superficielles. De plus ce sont de grosses cellules polynucléées qui peuvent posséder jusqu'à 30 noyaux ; à l'analyse caryotypique, ces cellules n'apparaîtraient probablement pas comme des cellules diploïdes normales.

ZIPURSKY et coll. (1963), COHEN et coll. (1964) ont montré l'existence, dans le sang maternel, d'érythrocytes foetaux, c'est-à-dire d'hématies acido-résistantes, donc contenant de l'hémoglobine foetale (technique de KLEIHAUER). Mais les hématies foetales ne sont nucléées et aptes à se diviser qu'avant le deuxième ou troisième mois de la vie embryonnaire (FRÜHLING et coll. (1949).

Les cellules foetales observées dans le sang maternel sont donc vraisemblablement des leucocytes, plus probablement des lymphocytes, puisque ces cellules sont sensibles à l'action de la phytohémagglutinine (WALKNOWSKA et coll. 1969).

Un autre argument en faveur du passage est le fait qu'en outre on trouve, dans le sérum des femmes multipares, des anticorps spécifiques des antigènes d'histocompatibilité du père (PAYNE et ROLFS 1958, DAUSSET 1959). De plus il a été montré (DEBRAY-SACHS et coll. 1969) que le taux de transformation des cultures mixtes de lymphocytes mère - enfant était beaucoup plus élevé quand on s'adressait à des nouveau-nés que lorsqu'on prenait les lymphocytes des enfants âgés de plus de 10 ans.

Ces derniers arguments sont en fait très discutables, car le passage de lymphocytes pourrait se produire au moment de l'accouchement, pendant lequel on sait qu'existent des transfusions de sang de l'enfant vers la mère.

La nature lymphocytaire des cellules détectées est en conséquence loin d'être certaine, d'autant que , comme nous allons le voir , la date la plus précoce à laquelle on a retrouvé des cellules 46,XY chez des femmes qui ont accouché de garçon coïncide avec celle de la première apparition des lymphocytes chez le fœtus , et qu'il est difficile d'expliquer ainsi le taux relativement élevé de ces cellules dans le sang maternel.

2. La date la plus précoce à laquelle apparaissent des cellules 46, XY chez des femmes qui donnent naissance à des garçons est assez difficile à préciser.

WALKNOWSKA et coll. ont observé des cellules 46,XY chez une femme dès la 14ème semaine de gestation , mais il s'agissait d'une troisième grossesse et le sexe des premiers nés n'était pas précisé.

Parmi les cas que nous avons étudiés , nous avons trouvé , chez une femme ayant eu auparavant seulement une fille (cas 7), deux cellules 46, XY dès la 13 ème semaine d'une grossesse qui a donné naissance à un garçon.

Chez une autre femme (cas 1) , dont la précédente grossesse avait donné naissance à des jumelles , l'étude faite à 15 semaines a montré l'existence de trois cellules 46, XY et cette femme a effectivement donné le jour à un garçon.

Le passage se ferait très tôt au cours de la grossesse . Pour concilier ce fait avec ce que l'on sait de la formation des lymphocytes chez le fœtus, il faut admettre que, dès leur apparition ceux-ci passent la barrière placentaire de manière sélective et peuvent dès lors être détectés précocément dans le sang maternel.

En effet, les premiers lymphocytes sont retrouvés dans le thymus vers la 9 ème semaine de la vie embryonnaire et dans le sang en petite quantité, vers la 14ème semaine ; ils apparaissent dans les ganglions , la rate entre 18 et 22 semaines (PAPIERNIK et NEZELOF 1970).

Il semble donc assez difficile de conclure sur ce point .
Le marquage par des corps fluorescents d'un frottis sanguin d'une femme enceinte pourrait permettre une détection des cellules mâles , car l'Y dans les noyaux en interphase fixe le produit intensément et est aisément repérable ; ces cellules pourraient ensuite être colorées et examinées , ce qui permettrait peut-être d'apporter un argument de plus en faveur de leur nature lymphocytaire.

3. Ce problème n'est pas le seul à se poser.

Il reste celui des modalités du passage transplacentaire des cellules foetales ; s'agit-il d'une transfusion de sang foetal chez la mère ou d'un phénomène sélectif ?

a) L'estimation de la proportion réelle de cellules foetales et maternelles, à partir des observations faites sur les préparations, est difficile, en raison de plusieurs facteurs :

- la sensibilité relative à la phytohémagglutinine des cellules foetales et maternelles ; WALKNOWSKA et coll. ont comparé l'indice mitotique de cultures de lymphocytes maternels et de sang veineux ombilical stimulées par la PHA : il est de 33 % en moyenne pour la première et de 60 % pour la seconde.

- les taux de survie respectifs des lymphocytes maternels et foetaux après 72 heures de culture.

- la survie des cellules foetales dans la circulation maternelle et leur multiplication éventuelle.

Malgré cette imprécision, on peut estimer très grossièrement qu'il circule dans le sang maternel de l'ordre de 10 millions de cellules foetales.

En effet , on observe environ deux mitoses foetales pour 1.000 mitoses maternelles . En corrigeant par les indices mitotiques respectifs , on obtient une proportion de trois lymphocytes foetaux pour 3.000 lymphocytes maternels.

En considérant qu'une femme a une masse sanguine de 5 litres environ, et qu'un millimètre cube de ce sang contient 2.000 lymphocytes, le nombre total de cellules foetales circulant dans le sang maternel est donné par le rapport $\frac{3 \times 5 \cdot 10^6}{1,5} = 10^7$ cellules foetales.

La quantité de sang foetal correspondante est bien difficile à apprécier, car on ne connaît pas avec précision la formule sanguine de l'embryon aux stades précoces de la vie intra-utérine.

En prenant un taux de 1000 lymphocytes par millimètre cube, taux qui est certainement surestimé il faudrait une transfusion de 10 ml de sang de l'enfant à la mère pour atteindre les proportions observées.

Or le foetus, à trois mois, mesure 9 cm de long et pèse 19 grammes (HAMILTON et coll.). Une transfusion de 10 ml de sang semble donc peu probable. Il serait donc plus satisfaisant d'envisager la possibilité d'un mécanisme sélectif, d'une " leucopherèse ".

B. Les études faites sur le passage d'érythrocytes de l'enfant à la mère donnent des résultats cohérents avec cette hypothèse.

En effet, la date à laquelle on retrouve des érythrocytes foetaux chez la mère est beaucoup plus tardive.

COHEN et coll. (1964) ont étudié le passage transplacentaire d'érythrocytes foetaux dans des grossesses compatibles dans le système ABOet avec absence d'anticorps anti-Rh.

Chez 161 des femmes étudiées, ils ont pratiqué 619 examens à divers âges de la grossesse. Le test employé peut détecter environ une cellule foetale sur 10 cellules maternelles.

Pendant le premier trimestre, le pourcentage de résultats positifs (c'est-à-dire présence de cellules foetales à un taux

variable dans le sang maternel) est de 6,7 %.

Au second trimestre , il est de 15,9 % , et au troisième de 28,9 %.

L'étude plus particulière d'une femme a montré l'absence d'érythrocytes foetaux dans le sang maternel jusqu'à 7 mois 1/2 environ et leur présence à des taux de 1/1000 pendant le dernier mois de la grossesse.

La quantité approximative de sang transfusé de l'enfant à la mère , varierait de 0,1 ml à 3 ml de sang environ.

Ces résultats suggèrent que les hématies foetales passent dans le sang maternel assez tardivement et que ce passage n'est pas constant.

4. Le passage transplacentaire des leucocytes foetaux semble donc se produire selon un mécanisme très différent de celui des érythrocytes.

C'est un phénomène précoce , probablement sélectif qui joue peut-être un rôle dans la tolérance immunitaire du fœtus par la mère.

Plusieurs auteurs (BILLINGHAM 1964, LANHAN 1965, KIREY 1968) ont cherché à analyser les différents facteurs pouvant expliquer cette tolérance : l'immaturité du système immunitaire fœtal ; la diminution , chez les femmes enceintes , de l'intensité des réactions immunitaires ; des propriétés particulières de l'utérus , qui favoriseraient la survie des greffes : la séparation physiologique du fœtus et de sa mère par la barrière placentaire.

a) Immaturité du système immunitaire fœtal.

L'apparition précoce d'antigènes de transplantation a été démontrée chez le lapin (TOOLAN 1958) et chez la souris (SIMONS et RUSSELL 1962) ; les embryons de souris seraient antigéniques dès le

quatrième jour de la vie embryonnaire.

Chez l'homme , le problème est mal connu ; mais plusieurs faits laissent penser que le foetus humain possède des antigènes de transplantation précocément (PAPIERNIK et NEZELOF 1970) :

- bien que des cellules maternelles traversent le placenta (DESAI et CREGER 1963) très peu d'observations rapportent la greffe de ces cellules sur le foetus avec maladie du greffon contre l'hôte, maladie qui implique l'immaturité du foetus (KADOWAKI et coll. 1965)

- Lors des transfusions de sang et de moelle pratiquées in utero lors des incompatibilités foeto-maternelles dans le système Rhésus , on a également rarement observé l'apparition d'une maladie du greffon contre l'hôte (NAIMAN et coll. 1966).

- enfin , l'étude de la transformation blastique des lymphocytes foetaux par la phytohémmagglutinine, dont le taux dans une population de cellules semble traduire sa compétence immunitaire, a montré que les lymphocytsthymiques et sanguins se comportaient comme des cellules adultes (à partir de la 12ème semaine de gestation pour les cellules thymiques et de la 15ème pour les cellules sanguines).

Le foetus humain possède donc très vraisemblablement des antigènes de transplantation et ceux-ci apparaissent probablement très tôt dans la vie intra-utérine.

b) Diminution, chez les femmes enceintes, de l'intensité des réactions immunitaires

Chez la souris , le cobaye et le hamster , les réponses à l'administration d'hématies de mouton , d'endotoxine bactérienne et de globuline bovine ne sont pas altérées au cours de la gestation . La position privilégiée du foetus en tant qu'homogreffe bien tolérée par l'organisme maternel ne peut donc pas être expliquée par une dépression généralisée des réactions immunitaires (MERRITT et GALTON 1969) .

c) L'utérus, site privilégié pour la survie des greffes.

L'existence de grossesses extra - utérines , tubaires et abdominales, dont quelques unes vont jusqu'au terme (BRIGHT et MASER 1961) rend cette hypothèse peu vraisemblable. L'utérus ne semble pas indispensable à la " survie immunologique " du fœtus.

d) Séparation physiologique entre le fœtus et sa mère : la barrière placentaire.

La couche de cellules trophoblastiques , qui représente le point de rencontre des deux organismes , foetal et maternel , semble dépourvue d'antigénicité (SIMMONS et RUSSELL 1962, PARK 1958,) ou tout au moins incapable de provoquer une réaction immunitaire , même lorsque des cellules trophoblastiques d'une souche sont transplantées dans une autre souche (KIRBY, 1962a ; SIMMONS et RUSSELL 1965). Cette propriété serait due à la sécrétion d'une substance amorphe isolante qui empêcherait aux antigènes portés par ces cellules de s'exprimer normalement (AVERY 1970).

L'existence d'une couche de cellules "tampon" entre l'enfant et sa mère est probablement un facteur à considérer dans l'explication de la survie paradoxale du fœtus.

e) Mais la barrière placentaire n'est en fait pas absolue puisqu'elle permet le passage de cellules dans un sens ou dans l'autre , et en conséquence un contact étroit entre les deux organismes.

PORTER et BREYERE (1964) ont montré que la survie, chez des souris femelles de la souche BALB , croisées à des mâles de la souche DBA, d'une tumeur de cette dernière souche était d'autant plus longue que les grossesses étaient plus nombreuses.

Ces auteurs suggèrent que la tolérance observée résulte de l'exposition de la mère aux antigènes foetaux par des hémorragies de sang foetal et de l'existence d'un phénomène de tolérance

immunitaire (SAZAMA et BREYERE 1969).

La tolérance immunitaire spécifique acquise a tout d'abord été décrite chez les embryons et chez les nouveau-nés . Puis elle a été également décrite chez l'adulte , pour des antigènes protéiques pour des substances chimiques simples et pour des antigènes cellulaires (VOISIN 1969, RENOUX 1971). Le mécanisme de ce phénomène n'est pas encore élucidé ; néanmoins, le rôle du dosage de l'antigène apporté à l'animal que l'on veut rendre tolérant a été clairement démontré.

CONCLUSIONS

=====

La détermination , avant la naissance , du sexe du foetus , est rendue possible par l'existence , dans le sang de la mère , de cellules provenant du foetus . La découverte de cellules ayant un caryotype masculin 46,XY , dans une population de cellules féminines, 46,XX, permet de conclure à la présence d'un foetus du sexe masculin. Cette étude ne paraît toutefois valable que si la mère n'a jamais eu de garçons lors de grossesses antérieures.

L'existence d' anomalies chromosomiques du foetus est beaucoup plus délicate à affirmer, étant donnée la présence, chez des individus normaux, d'un faible pourcentage de cellules anormales. Le diagnostic d'anomalies chromosomiques du foetus pourrait éventuellement être possible si suffisamment de cellules sont étudiées chez la mère.

Nos résultats sont en faveur du passage transplacentaire , vers la mère, de cellules foetales, vraisemblablement de lymphocytes, et cela à un âge précoce de la vie embryonnaire (probablement dès la 13 ème semaine) . Pendant la première moitié de la grossesse , ce passage ne concernerait que des lymphocytes , car on ne retrouve pas d'érythrocytes foetaux dans le sang maternel avant le troisième trimestre de la grossesse.

On peut penser que cette transfusion foeto - maternelle précoce, grâce à un mécanisme rappelant la tolérance immunitaire acquise , est l'un des facteurs qui permettent au foetus de se développer chez la mère malgré les différences antigéniques qui existent entre les deux organismes.

TABLEAU I

Renseignements concernant les 30 femmes enceintes étudiées par
WALKNOWSKA, CONTE et GRUMBACH. F = fille, M = garçon.

CAS	AGE EN SEMAINES	NOMBRE DE GROSSESSES	NOMBRE TOTAL DE CELLULES	CELLULES 46,XY	SEXE DU NOUVEAU-NE
I	14	3	195	3	M
4	20	5	700	I	M
5	20	2	250	3	M
6	27	I	240	2	M
7	27	4	450	I	M
8	29	3	500	2	M
9	30	I	520	2	M
I2	31	I	800	2	M
I3	32	I	510	2	M
I5	32	2	560	3	M
I7	34	I	300	I	M
I9	34	I	400	I	M
23	34	I	391	I	M
24	35	I	240	I	M
25	35	I	200	I	M
26	35	2	200	I	M
27	35	I	250	2	M
28	35	I	476	2	M
30	37	I	220	I	M
2	16	3	600	0	F
II	31	I	395	0	F
I4	32	2	450	0	F
I6	32	I	500	0	F
20	34	I	500	0	F
22	34	I	500	0	F
I0	30	2	601	0	M
I8	34	I	470	0	M
21	34	I	700	0	M
3	I8	I	900	I	F
29	35	2	I95	I	F

TABLEAU II

Renseignements concernant les 21 femmes enceintes. F = fille. M = Garçon
FC = avortement. F.F. = jumelles.

CAS	AGE EN SEMAINE	GROSSESSES PRECEDENTES	NOMBRE TOTAL DE CELLULES	46,XY	AUTRES OBSERVATIONS	NAISSANCE
I	15	F.F.	183	3	-	M
2	24	-	553	3	-	M
3	23	F.FC	352	7	-	M
4	39	F.F.	833	1	-	M
5	16	-	433	1	I marqueur	M
6	26	-	1475	2	47,XY,(X-C) +	M
7	13	F	865	2	46,XX,Gq - 47,XX,G + 45,XX,t(Dq Dq)Fra+ 47,XX E +	M
8	21	F	400	2	-	M
9	32	F	800	0	-	F
10	33	FC.FC.FC.FC.F.F	671	0	-	F
11	34	F	617	0	Cassure et endoredu- plication du 2	F
12	32	-	412	0	-	F
13	25	-	796	0	46,XX,T(Cq+ ; Dq-) cellule hyperdi- ploïde + endoredu- plication partielle	F
14	30	F	706	0	-	F
15	22	F	810	0	-	M
16	29	-	810	0	-	M
17	16	-	789	0	47,XX,G +	M
18	16	M	650	1	-	F
19	34	M	363	1	-	F
20	14	M	791	1	-	F
21	21	FC	400	2	-	F

BIBLIOGRAPHIE

=====

- AMAROSE, A.P. ; WALLINGFORD, A.J. ; PLOTZ, E.J., 1966. Prediction of foetal sex from cytologic examination of amniotic cells. New. Engl. J. Med. 275 : 715.
- AVERY, G.B., 1970. Analysis of materno-foetal tolerance : a natural exception to transplantation immunity. Excepta Med. Internation. Cong. Ser. Pays Bas 197 : 6.
- BILLINGHAM, R.E., 1964. Transplantation immunity and the maternal-foetal relation. New Engl. J. of Med. 270 : 667.
- BRIGHT, A.S., MASER, A.H., 1961. Advanced abdominal pregnancy. Review of the recent literature and the report of a case. Obstet. Gynec. 17 ; 316.
- COHEN, F., ZUELZER, W.W., GUSTAFSON, D.C., EVANS, M., 1964. Mechanisms of isoimmunisation. 1 - The transplacental passage of foetal erythrocytes in homospecific pregnancies. Blood 23 : 621.
- DAUSSET, J., 1959. Isoanticorps et isoantigènes de leucocytes et de plaquettes indépendants de ceux des érythrocytes. Presse Méd. 67 : 1445.
- DEBRAY-SACHS, M., BACH, J.F., BACH, C., DORMONT, J., 1969. Transformation des lymphocytes du nouveau-né avec les lymphocytes de la mère. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 117 : 862.
- DESAI, R.G., CREGER, W.P., 1963. Materno-foetal passage of leucocytes and platelets in man. Blood 21 : 665
- DOUGLAS, G.W., THOMAS, L., CARR, M., CULLEN, N.M., MORRIS, M., 1959. Trophoblast in the circulating blood during pregnancy. Am. J. Obstet. Gynec. 78 : 960
- EMERY, A.E.H, 1970. Antenatal diagnosis of Genetic Disease. Modern Trends in Human Genetics chap. 9 p. 267. London. Butterworths.
- FRUHLING L., ROGERS, JOBARD, P., 1949. L'hématologie normale de l'embryon, du foetus et du nouveau-né humain. Sang, 20 : 313.
- GROUCHY J. de, MOULLEC, J., SALMON, Ch., JOSSO, N., FREZAL, J., LAMY, M., 1964. Hermaphrodisme avec caryotype XX/XY. Etude Génétique d'un cas. Ann. Génét. 7 : 25.
- GROUCHY, J. de, ROUBIN, M., PASSAGE, E., 1964. Microtechnique pour l'étude des chromosomes humains à partir d'une culture de leucocytes sanguins. Ann. Génét. 7 : 45.
- GROUCHY, J. de, 1967. Le fonds permanent de remaniements chromosomiques Fréquence de survenue de chromosomes marqueurs dans les cellules normales. Ann. Génét. 10 : 46.

- HAMILTON, W.J., BOYD, J.D., MOSSMAN, H.W. Human Embryologie. Heffer Cambridge.
- KADOWAKI, J.I., THOMPSON, R.I., ZEULZER, W.W., NOOLEY, P.V., BROUGET, A.J., GRUBER, D. XX/XY lymphoid chimaerism in congenital immunological deficiency syndrom with thymic alymphoplasia. *Lancet*, 2 : II52.
- KIRBY, D.R.S., 1962a. Reciprocal transplantation of blastocysts between rats and mice. *Nature (London)* 194 : 786.
- KIRBY, D.R.S., 1968. Transplantation and Pregnancy. in : Human Transpl. chap. 35 : 565 (Edited by F.T. Rapaport and J. Dausset) New York.
- LANMAN, J., 1965. Transplantation immunity in mammalian pregnancy ; mechanisms of foetal protection against immunologic rejection. *J. Pediat.* 66 : 525.
- LEE, R.E., VASQUEZ, J.J., 1962. Immunocytochemical evidence for transplacental passage of erythrocytes. *Lab. Invest.* II : 580.
- LEJEUNE, J., BERGER, R., RETHORE, M.O, 1966. Sur l'endoréduplication sélective de certains segments du génome. *C.R. Acad. Sc. Paris* 263 : I880.
- MAKOWSKI, E.L., PREM K.A, KAISER, I.H., 1956. Detection of sex of fetuses by the incidence of sex chromatin body in nuclei of cells in amniotic fluid. *Science*, I23 : 542.
- McLAREY, D.C., FISH, S.A., 1966. Foetal erythrocytes in the maternal circulation. *Am. J. Obstet. Gynec.* 95 : 824.
- MERRITT, K., GALTON, M., 1969. Antibody formation during pregnancy. *Transplantation (USA)* 6 : 562.
- NAIMAN, J.L., PUNNETT, H.H., LISCHNER, H.N., DESTINE, M.L., AREY, J.B., 1969. Possible graft-versus-host reaction after intra-uterine transfusion for Rh erythroblastosis fetalis. *New Engl. J. Med.* 281 - 697.
- PAPIERNIK, M., NEZELOF, C., 1970. Promotion immunitaire du foetus humain. *Arch. Franc. de Ped.* XXVII : 777.
- PARK, W.N., 1958. Experimental trophoblastic embolism of the lungs. *J. Path. Bact.* 75 : 257.
- PAYNER, R., ROLFS, M.R., 1958. Fetomaternal leucocyte incompatibility. *J. Clin. Invest.* 37 : I756.
- PEARSON, H.A., DIAMOND, L.K., 1959. Foeto-maternal transfusion. *Am. J. Dis. Child.* 97 : 267.
- PORTER, J.B., BREYERE, E. ., 1964. Studies on the source of antigenic stimulation in the induction of tolerance by par .y. *Transplantation* 2 : 246.
- RAOUL, O., 1970. Contribution à l'étude des lacunes s'accompagnant d'endoréductions sélectives de certains chromosomes humains. Thèse pour le doctorat en Médecine PARIS.

- REILLY, C.T., 1960. The maternal-foetal barrier. *Am. J. Obstet. Gynec.* 80 : 391.
- RENOUX, M., 1971. Tolérance immunitaire. *Rev. Prat.* 21 : 903.
- RIIS, P., FUSCHS, F., 1960. Antenatal determination of foetal sex in prevention of hereditary diseases. *Lancet* 2 : 180.
- SAZAMA, K.P., BREYERE, E.J., 1969. Length of gestation necessary for induction of maternal tolerance. *Transplantation*, 8 : 502.
- SEER, D.M., MARGOLIS, E., 1964. Diagnosis of foetal sex in a sex-linked hereditary disorder. *Am. J. Obstet. Gynec.* 88 : 230.
- SHETTLES, L.B., 1956. Nuclear morphology of cells in human amniotic fluid in relation to sex of infant. *Am. J. Obstet. Gynec.* 71 : 834.
- SIMMONS, R.L., RUSSELL P.S., 1962. Antigenicity of mouse trophoblast. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 99 : 717.
- SIMMONS, R.L., RUSSELL, P.S., 1965. Histocompatibility antigens in transplanted mouse eggs. *Nature (London)* 208 : 698.
- SPERLING, K., SALING, E., 1971. Prenatal chromosome analysis with mosaic statement 46,XX/92,XXXX Possibility of an erroneous diagnosis. *Human genetic*, II : 139.
- STEBLE, M.W., BREG, R.J., 1966. Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. *Lancet*, I : 383.
- TOOLAN, H.W., 1958. Studies of adult and embryonic skin homografts on conditioned or normal rabbits, with emphasis on the possible role of the ground substance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 73 : 546.
- United Nations, 1969. Report of the United Nations scientific committee on the effects of atomic radiation. 24th Session suppl. 13 (A/7613)
- VOISIN, G.A., 1969. Mécanismes communs aux atteintes auto-immunitaires et au rejet des homogreffes. *Sem. Hôp. Pathol. Biol.* 17 : 509.
- WALKNOWSKA, J., CONTE, A.F., GRUMBACH, M.M., 1969. Practical and theoretical implications of foetal-maternal lymphocyte transfer. *Lancet*, I : III9.
- ZIPURSKY, A., POLLACK, J., NEELANDS, P., CHOWN, B., ISRAELS, L.G., 1963. The transplacental passage of foetal red blood cells and the pathogenesis of Rh immunisation during pregnancy. *Lancet* 2 : 489.

